Lane Medical Library

Ueber Chemotaxis.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der gesammten Medicin

verfasst und der

hohen medicinischen Facultät

der

kgl. bayer. Ludwig-Maximilians-Universität in München

unter dem Präsidium des

Herrn Professor Dr. Bauer

vorgelegt von

Karl Buder,

cand. med.

aus Gaiss bei Nenzing, Vorarlberg.

München.

Buchdruckerei von M. Ernst.

1894.

Ueber Chemotaxis.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der gesammten Medicin

verfasst und der

hohen medicinischen Facultät

der

kgl. bayer. Ludwig-Maximilians-Universität in München

unter dem Präsidium des

Herrn Professor Dr. Bauer

vorgelegt von

Karl Buder,

cand. med.

aus Gaiss bei Nenzing, Vorarlberg.

München.

Buchdruckerei von M. Ernst.

1894.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153302_0159

Ueber Chemotaxis.

Versuche an Kaninchen.

Engelmann veröffentlichte 1881 in Pflüger's Archiv (Pfl. Arch. XXV. Neue Methode zur Untersuchung der Sauerstoffausscheidung pflanzlicher und thierischer Organismen) seine interessanten Versuche über ein neues Verfahren, Sauerstoff auch in den denkbar geringsten Quantitäten sicher nachzuweisen. Dieses Reagens beruhte auf der Thatsache, dass gewisse Bakterien in einer Flüssigkeit, in welcher chlorophyllhaltige Pflanzenzellen Sauerstoff entwickeln, lebhaft nach dem Orte der Sauerstoffausscheidung hinwandern:

„Das ausserordentlich grosse Sauerstoffbedürfnis der beweglichen Zustände der gewöhnlichen Fäulnisbakterien, namentlich der frisch gezüchteten und kleinen Formen (Bakterium termo Cohn) ist bekannt. Sie sammeln sich zunächst immer an der Oberfläche der Flüssigkeit an in den dichtesten Scharen. In einem an beweglichen Bakterien sehr reichen Tropfen, der auf einen Objectträger gebracht und mit gewöhnlichem Deckgläschen bedeckt wird, drängen sie sich alsbald in dichtem Gewimmel an den Rändern des Tropfens zusammen; sind Luftblasen unter den Tropfen eingeschlossen, auch um diesen."

„Bringt man nun in einen an bewegungsfähigen

Copulation, die negative Chemotaxis jedoch sie im allgemeinen vor heftigen Schädlichkeiten schützt.

Unabhängig von Pfeffer und bevor dessen grundlegende Versuche veröffentlicht worden waren, fand Leber (Fortschritte der Medic. 1888), dass auch bei den Leukocyten des Blutes eine Fernwirkung durch chemische Reize bestehe. Ausgehend von seinen Beobachtungen über die Aspergillus-Keratitis, kam er zur Annahme, dass die binnen kurzer Zeit zwischen den Hornhautlamellen und in der vorderen Augenkammer sich ansammelnden Eiterkörperchen „nicht regellos wandern", sondern einem Zug nach dem Orte des Entzündungsreizes hin gehorchen; dass sie ferner an dem Orte selbst eine Art Lähmungswirkung erfahren und festgehalten werden. Zur Erklärung dieser Erscheinung nahm er an, dass von dem in der Hornhaut, „der grossen gefässlosen Insel", liegenden Pilzherde Stoffwechselprodukte in die Umgebung diffundieren und eine anlockende Wirkung ausüben auf die Leukocyten, die in den benachbarten Lymphräumen und den nächstliegenden Gefässen des Hornhautrandes, der Conjunctiva und der Iris sich bewegen.

Leber fand, dass eine sicher sterilisierte Aufschwemmung einer Staphylococcenkultur, in die vordere Augenkammer injiciert, heftige eiterige Entzündung hervorruft, der jedoch zum Unterschied von der durch lebende Coccen verursachten Entzündung die „Fähigkeit zur Weiterverbreitung fehlt, und die selbst bei grosser Intensität stets verhältnismässig schnell zur Heilung gelangt". Damit war auch die, des weiteren von Grawitz, de Bary und anderen genauer untersuchte Frage der aseptischen Eiterung, der Eiter-

ansammlung bei Ausschluss pathogener Mikroorganismen, entschieden.

Leber hat nun eine Reihe organischer und anorganischer Substanzen auf ihr Vermögen, anlockend auf die Leukocyten zu wirken, geprüft und sich dazu kleiner 5—6 mm langer, 1 mm weiter, an einem Ende zugeschmolzener Capillaren bedient, die, mit den betreffenden Stoffen gefüllt, in die vordere Augenkammer der Versuchsthiere, vornehmlich Meerschweinchen, eingeführt wurden. Während „indifferente" Stoffe, wie Aqua dest., Humor aqueus, Chlornatriumlösung geringer Concentration, kaum nennenswerte positive Resultate ergaben, zeigten sich in auffallendem Gegensatz hiezu bei anderen Substanzen dichte Eiterpfröpfe in den Capillaren.

Leber fasst nun seine Beobachtungen in dem Sinne auf, dass die zahlreichen Leukocyten (bei Entzündungs- und Eiterungsprocessen), angelockt durch dem Organismus fremde Substanzen, dazu dienen, diesen fremden Körper als eine „Schädlichkeit zu eliminieren", und zwar in doppelter Weise: 1. Im Sinne der Phagocytose Metschnikoff's, wonach die Leukocyten, wie Leber es bei der Aspergillus-Keratitis wirklich sah, kleinste Teile des Fremdkörpers in sich aufnehmen und unschädlich machen. 2. Lässt Leber den weissen Blutkörperchen auch eine gewebsauflösende, „histolytische" Rolle zukommen. „Bekanntlich kommt es in der Umgebung einer Pilzinvasion oder eines sonst nekrotisch gewordenen Gewebsstückes zur Bildung eines eiterigen Demarkationshofes mit nachfolgender Erweichung des eiterig infiltrierten Bezirkes, die zur Abstossung der nekrotischen Substanz

führt, und die nur durch eine Art von Verdauungswirkung auf das Gewebe zustande kommen kann."

„Die Entzündung", schliesst Leber, „lässt sich daher auffassen als ein zweckmässiger Vorgang, der in einer Gegenwirkung gegen äussere Schädlichkeiten besteht; dieselbe setzt sich zusammen aus einer Reihe von einzelnen Vorgängen, von denen die durch chemotactische Einflüsse beherrschte Auswanderung und Attraction der weissen Blutkörperchen, die Phagocytose und histolytische Fermentwirkung, auf vitalen Eigenschaften zelliger Elemente beruhen."

Leber hatte neben löslichen Stoffen auch eine Anzahl unlöslicher, wie Kupfer, Quecksilber, Zinnober, Schwefel etc., auf ihre leukotactischen Eigenschaften untersucht, und fand bei einigen, z. B. Kupfer, Quecksilber, starke Eiteransammlung. Buchner hält eine „direct anlockende Wirkung für widersinnig", ist vielmehr geneigt, die Attraction der weissen Blutzellen auf Umwandlungsprodukte zurückzuführen, die aus den Geweben entstehen bei Berührung mit den genannten Substanzen.

Nach Massart und Bordet, die neben der chemotactischen noch eine tactile Reizbarkeit annehmen, Gabritschewsky und Anderen, ist es insbesondere Buchner (Die chemische Reizbarkeit der Leukocyten und deren Beziehung zur Entzündung und Eiterung. Berl. klin. Wochenschrift 1890 N. 47), der die Erfahrungen über die Chemotaxis sehr bereichert und einer Verwertung für die Therapie bereits näher gebracht hat.

Buchner hat vornehmlich eine grössere Zahl von Bakterienproteïnen, wie er die Eiweissstoffe der Bakterien nennt, geprüft und sämmtliche als stark

anlockend auf Leukocyten gefunden, im Unterschied zu den negativen sogenannten Zersetzungsprodukten der Bakterien. Weiter untersuchte Buchner die Pflanzencaseïne, Alkalialbuminate und eine Reihe von Umwandlungsprodukten thierischer Gewebe, und kam zum Schluss, dass „nicht die Endglieder des Oxydationsprocesses im Thierkörper es sind, welche eine chemotactische Wirkung auf Leukocyten üben, sondern vielmehr die allerersten Umwandlungsprodukte".

An Stellen, wo physiologische oder pathologische Resorptionsprocesse stattfinden, stellen sich immer Leukocyten in grosser Zahl ein, um nach Metschnikoff als Phagocyten zu wirken. Buchner vermutet, dass bei jenen Resorptionsvorgängen aus den absterbenden Geweben Umwandlungsprodukte, insbesondere Alkalialbuminate in Lösung gehen, die positiv chemotactisch auf die Leukocyten wirken; wie erwähnt, erwiesen sich bei den Röhrchenversuchen die Alkalialbuminate als starke Lockmittel der weissen Zellen.

In den nun im Folgenden anzuführenden Versuchen über Leukotaxis am Kaninchen, hatte Untersuchender sich die Aufgabe gestellt:

1. Eine Anzahl von löslichen Substanzen bezüglich ihrer Fähigkeit, Leukocyten anzulocken, zu prüfen;

2. Bei eventuellen positiven Resultaten durch verschiedene Färbemethoden die Art der Leukocyten zu untersuchen, nachdem seit Ehrlich, soweit es sich um normales Blut handelt, dieselben je nach der in ihnen zu findenden Körnung differenziert werden in Zellen mit α — oder acido — resp. eosinophilen, mit δ — oder basophilen, endlich ε — oder neutrophilen Granula.

Direkte Veranlassung zu diesen Versuchen gab die interessante Publikation H. Fr. Müllers: Zur Lehre vom Asthma bronchiale. (Centralblatt für Allgem. Pathologie u. Patholog. Anatomie IV 1893.)

Es war Leiden gelungen, im Sputum von Asthmatikern zur Zeit des Anfalles mehr weniger zahlreiche spitze oktoedrische Kristalle nachzuweisen. Diese sogenannten Charkot'schen Kristalle verwertete er als ursächliches Moment für die Anfälle, indem er annahm, dass die Kristalle mechanisch, eventuell auch chemisch, die Bronchialschleimhaut reizen und auf reflectorischem Wege einen Krampf der Bronchialmuskulatur auslösen.

Bei der Untersuchung des eitrigen Sputums machte Fr. Müller die von Anderen bestätigte überraschende Entdeckung, dass sich immer neben den gewöhnlichen neutrophilen besonders zahlreiche eosinophile Zellen finden. Dazu gesellte sich noch die Beobachtung (Fink, Fr. Müller, Gabritschewsky u. Andere), dass auch im Blut der Asthmatiker die eosinophilen Elemente vermehrt sind. Dieses constante Zusammentreffen der erwähnten Kristalle einerseits, der eosinophilen Zellen in Sputum und Blut andererseits, fand verschiedene Erklärungen und Deutungen. Gollasch (Müller a. a. O.) und Andere nahmen an, dass die „Charkot-Leiden'schen Kristalle ein Kristallisationsderivat der eosinophilen Zellen vorstellen", wodurch allerdings die Herkunft der Kristalle, nicht aber die Anwesenheit der massenhaften eosinophilen Zellen selbst in den Bronchiolen resp. dem Sputum eine Erklärung finden würde. Einen Grund für letztere glaubte Gabritschewsky gefunden zu haben. Bei seinen Studien über das Blut der an Asthma Leidenden

glaubte er, wenigstens in einigen Fällen, an den mehrkernigen neutrophilen Leukocyten eine besondere krankhafte Veränderung wahrnehmen zu können, die sich charakterisierte durch Zerbröckelung und ungleiches Tinctionsvermögen der Kerne. Zugleich hätten die erkrankten neutrophilen Zellen auch die Fähigkeit, Bewegungen auszuführen, also auszuwandern, teilweise oder ganz eingebüsst, was das thatsächliche Ueberwiegen der eosinophilen Zellen im Sputum erklären würde.

Im Gegensatze hiezu konnte jedoch H. Fr. Müller bei Anwendung des warmen Objecttisches ein Abweichen von der Norm nicht erkennen. H. Fr. Müller bringt die Charkot'schen Kristalle auch in Zusammenhang mit den eosinophilen Zellen; er ist jedoch geneigt, erstere für das Primäre, letztere für die Folge derselben anzusehen.

Beim asthmatischen Anfall wird, nach Leiden, in die Lungenalveolen und Bronchiolen ein „Exsudat", eine „Lymphe", abgeschieden, aus welcher die Kristalle sich bilden. Diesen Kristallen, resp. den sie erzeugenden in der Lymphe enthaltenen Substanzen spricht H. Fr. Müller die Fähigkeit zu, durch Chemotaxis speciell die eosinophilen Zellen anzulocken, und ebenso auch durch ihre Anwesenheit im Blute eine verstärkte Zuwanderung der eosinophilen Elemente zu bewirken.

„Die Kristalle (im Sputum) sind nicht aus den eosinophilen Zellen als ein Kristallisationsprodukt derselben entstanden, sondern sie sind das Kristallisationsprodukt einer jener Substanzen, welche auf die eosinophilen Zellen positiv chemotactisch wirken. Man könnte derartige Substanzen direct als α-leukotactische bezeichnen zum Unterschied von den ε-leukotactischen,

welche die gewöhnlichen Eiterzellen, Ehrlich's ε-granulierte Leukocyten, anlocken."

Ausser im Asthma-Sputum fand H. Fr. Müller fast ausschliesslich eosinophile Zellen im Inhalt von Pemphigus-Blasen. Eosinophile Zellen finden sich auch gehäuft im Knochenmark, in der Thymusdrüse, in Nasenpolypen etc., nur neutrophile Zellen in Empyem- und Trippereiter, im Exsudat bei Meningitis cerebrospinal. und Aehnlichem. (Dem von Anderen mitgeteilten Befunde eosinophiler Zellen im Trippereiter kann Verfasser nach eigenen Untersuchungen nicht beipflichten.) Müller nimmt daher an, dass „die verschiedene Auslese der Leukocytenarten auf eine verschiedene Wirksamkeit der in den Geweben (deren functionell verschiedene Zellen stoffliche Verschiedenheiten, sowie Verschiedenheiten ihrer Stoffwechselprodukte zeigen) befindlichen „leukotactisch wirksamen Substanzen" zurückzuführen ist, deren eine Art für die ε-granulierten, deren andere aber für die α-granulierten Zellen wirksam ist."

Nimmt man α- und ε-leukotactische Stoffe an, so ist man in derselben Weise vielleicht auch berechtigt, δ-leukotactische Substanzen zu vermuten, für welche ja in gleicher Art die Annahme Müller's, dass „die Verschiedenheit des Verhaltens gegenüber chemotactisch wirksamen Stoffen in der stofflichen Verschiedenheit ihrer Körnelung ihre Erklärung finden dürfte", gelten könnte. Zu verwenden wäre vielleicht für letzteren Punkt die Angabe Senator's (Farbenanalyt. Untersuchungen bei Nephritis, Virchow's Archiv 131, cit. n. Müller a. a. O.), dass das Sediment bei Nephritis hauptsächlich aus einkernigen Leukocyten bestehe.

Ausgehend von der von H. Fr. Müller aufgestellten Einteilung der Stoffe bezüglich ihres chemotactischen Verhaltens den weissen Blutzellen gegenüber, konnte man sich der Vermutung nicht ganz verschliessen, bei Anwendung verschiedener Stoffe zu Röhrchenversuchen vielleicht auch verschiedene Granulationen zu finden, eine Erwartung, die allerdings bisher fehlgeschlagen. Es muss aber vorausgeschickt werden, dass bei den im Weiteren zu erwähnenden Versuchen gerade jene Stoffe, welche ein ganz besonderes Interesse beansprucht hätten, z. Z. nicht zur Verfügung standen.

Massart und Bordet, Gabritschewsky und andere haben sich bei ihren Versuchen kleiner Spindelröhrchen, sowie verschieden langer Glascapillaren bedient. Buchner hat folgendes Verfahren angegeben: Frisch ausgezogene Glascapillaren, 5 cm lang, mit einem Lumen von 0.25—1 mm, werden an einem Ende zugeschmolzen, zur Austreibung der Luft erwärmt und durch nachfolgendes Eintauchen in die sterilisierte Flüssigkeit mit derselben gefüllt. Mehrere der Röhrchen werden, um ihre Festigkeit zu erhöhen, mittelst feinen Drahtes zu einem Bündel vereinigt und den Versuchsthieren in eine vorher angelegte aseptische Hauttasche eingelegt. Durch eine Naht werden die Röhrchen, deren zugeschmolzene Enden etwa 1 cm weit frei nach aussen ragen, fixiert.

Dieses Verfahren kam mit einigen nicht sehr wesentlichen Modificationen auch bei meinen Versuchen zur Anwendung.

Glascapillaren mit ziemlich starken Wandungen, 6 cm lang, 0.75 mm — 1 mm weit wurden behufs

Sterilisation, besonders der inneren Wandung, durch längere Zeit der trockenen Hitze ausgesetzt und sofort, noch warm, durch Capillarattraction soweit mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt, dass ein Zuschmelzen der Enden eben noch leicht möglich war (Es erscheint geraten, nach Verschluss des einen Endes solange zu warten, bis dasselbe völlig erkaltet ist, resp. der flüssige Inhalt sich ganz retrahiert hat. Verschliesst man das andere Ende früher, so steht nach dem Erkalten der Capillaren deren Inhalt unter negativem Druck. Die Flüssigkeit wird sich dann, wenn die Röhrchen gebrochen werden, unter der Einwirkung des atmosphärischen Druckes von der Mitte nach den beiden verschlossenen Enden zurückziehen, somit die neugeschaffenen offenen Enden nicht mehr erreichen und ihren Zweck verfehlen.)

Die so gefüllten Röhrchen wurden nun behufs Sterilerhaltung in Alkohol gelegt.

Ein erstes Erfordernis war es, die keimfreien Capillaren auch keimfrei an ihren Bestimmungsort zu bringen.

Am Rücken der Versuchsthiere (Kaninchen), etwas seitlich von der Wirbelsäule, wurden die Haare in der Ausdehnung von 6—8 cm im Durchmesser möglichst gut entfernt, und diese Stelle zuerst mit Wasser und Seife, hernach mit Solveol und zuletzt mit Alkohol gereinigt. Mit scharfer steriler Lanzette wurde die Haut durchstochen, hierauf mittelst sterilen feinen Trokars (ohne Hülse) von der Oeffnung aus, parallel zur Wirbelsäule, also wagrecht, subcutan ein ca. 10 cm langer Canal gegraben. Nachdem eine eventuelle Blutung aus der kleinen Wunde sorgfältig gestillt war,

wurden drei der Capillaren, die aus dem Alkohol heraus für einen Augenblick in Aether getaucht waren, mit frisch geglühter Pincette gefasst, einzeln in den präformirten Canal eingeschoben und vollständig unter der Haut verborgen. Die kleine Wunde der Haut wurde mit dichtem Sublimat-Watte-Collodiumverband vor Infection geschützt. Die Röhrchen blieben nun 48 Stunden unversehrt liegen, um allenfalls bei der Einführung derselben entstandene kleine Extravasate während dieser Zeit zur Resorption zu bringen. Es fanden sich denn auch nur ganz vereinzelt rote Blutkörperchen in den Capillaren, welche sich vielleicht auch erst bei der Herausnahme derselben beigemischt haben mögen.

Am dritten Tage wurden die neben einander liegenden Capillaren durch die Hautdecke hindurch in der Mitte gebrochen, was immer leicht und an einer bestimmten Stelle geschah, welche vor der Einführung der Röhrchen durch Ritzen mittelst eines Glasstahles angezeichnet worden war.

Auf solche Art war nun doppeltes erreicht. Einmal war man sicher, sowohl bezüglich der Glascapillaren selbst, als deren Inhalt völlige Asepsis gewahrt zu haben; zweitens hatte man den Vorteil, nach der Zweiteilung der Röhrchen nun sechs Eingangspforten für die anzulockenden Zellen eröffnet zu haben, so dass also für die nachfolgende mikroscopische Untersuchung sich genügend Material bot.

Die Versuchsthiere ertrugen diesen allerdings nur kleinen Eingriff immer gut und verhielten sich auch den doch beträchtlich langen Fremdkörpern gegenüber vollkommen ruhig. Trotz der grösseren Zahl der

Versuche konnte ein vorzeitiges Zerbrechen der Röhrchen nie wahrgenommen werden. Die von vornherein möglichst klein angelegte Hautwunde war am 5. Tage immer verklebt und meist nur mit Mühe mehr zu finden.

Am 5. Tage, also 48 Stunden nach Eröffnung der Capillaren wurden diese unter möglichster Vermeidung jeder Blutbeimischung den Thieren entnommen, der Inhalt, soweit er getrübt oder in dichten Eiterpfröpfen bestand, auf Deckgläschen ausgeblasen und mittelst Platinnadel fein verteilt.

Für die Fixierung und Färbung der Präparate kamen die Methoden Ehrlichs, wie sie Rieder in seinem „Atlas der klinischen Mikroscopie des Blutes“ angibt, zur Anwendung.

Die lufttrockenen Präparate wurden im Trockenschrank langsam auf 110°—120° C. erhitzt, 1½—2 Stunden dieser Temperatur ausgesetzt und langsam wieder abgekühlt. Durch diese Behandlung werden die Zellen an die Glasflächen fixiert, die protoplasmatischen Substanzen ihrer Löslichkeit und Quellbarkeit beraubt, ohne jedoch weniger tauglich zu werden für die nachfolgende Färbung. Für Letztere wurden drei Wege eingeschlagen, welche hier in Kürze angeführt sein mögen.

1. Färbung mit Eosin-Haemalaun:

Von einer gesättigten Lösung von Eosin in 5 % Carbol-Glycerin werden 2—3 Tropfen zwischen zwei Deckgläschen gegeben. Nach 2 oder mehreren Stunden werden die Präparate in Wasser gut ausgewaschen, getrocknet und hierauf in derselben Weise mit einigen Tropfen Hämalaun beschickt. Nach ½ bis ¾ Stunde

kurzes Abspülen, Trocknen, Einschluss in Canadabalsam.

2. Färbung mit Ehrlich's Dreifarbengemisch, resp. der von Aronson-Philipp angegebenen Farbenlösung. Letztere wird in folgender Weise bereitet:

Man mengt 55 cm^3 gesättigter wässeriger Lösung von Orange G mit 50 cm^3 gesättigter wässeriger Lösung von Säurefuchsin, fügt 100 cm^3 Aqua dest. und 50 cm^3 Alkohol. absol. und hernach unter Umschütteln ein Gemisch von 65 cm^3 gesättigter wässeriger Lösung von kristallisiertem Methylgrün, 50 cm^3 Aqua. dest. und 12 cm^3 Alkohol. absol. hinzu. Bei der Herstellung dieses Farbengemisches und dessen weiterer Verwendung ist darauf zu achten, dass Gefässe, Glasstäbe, Pipetten und die zu färbenden Präparate absolut trocken sind, da sich sonst sofort ein schwarzer klebriger Niederschlag bildet.

Die so bereitete Lösung muss 1—2 Wochen ruhig stehen gelassen werden und soll dann immer mittelst trockener Pipette aus der Mitte des Gefässes entnommen werden. Sie liefert schöne Präparate, hat jedoch den grossen Nachteil geringer Haltbarkeit, indem sie ihre volle Tinctionskraft bereits nach wenigen Tagen verliert. Färbung 3/4—1 Stunde, hierauf langes Auswaschen, am besten unter öfterer Controle des Mikroscops. Trocknen, Einschluss in Canadabalsam.

3. Färbung mit Methylenblau-Lösung.

Concentrierte Methylenblau-Lösung für sich oder zur Hälfte mit Wasser verdünnt. Einwirkung 1—3 Minuten, Trocknen, Einschluss.

Bevor ich auf die Resultate der Versuche eingehe, sei es mir gestattet, einige Bemerkungen über das

Blut der Kaninchen, resp. die in demselben vorkommenden Leukocyten, vorauszuschicken. Entnommen wurde das Blut einer Ohrvene; Umwandlung in Dauerpräparate und Färbung in der oben geschilderten Weise.

1. Eosin-Glycerin-Haemalaun.

Die roten Blutkörperchen mit einem Durchmesser von 6.5—8.5 μ, sind leuchtend rot gefärbt, die Kerne sämmtlicher zahlreich vorhandenen weissen Blutzellen blauviolett und zeigen mehr weniger deutliche Kernstruktur. Unter den Leukocyten fällt auf die grosse Menge der sogenannten eosinophilen Zellen, die, bei den verschiedenen Kaninchen wechselnd, im allgemeinen doch 25% – 30% (und mehr) sämmtlicher Leukocyten betragen dürften, während für das normale menschliche Blut ungleich kleinere Procentzahlen gefunden werden (v. Limbeck 2%—8%, Müller-Rieder 1%—4%).

Diese Zellen enthalten die von Ehrlich mit α bezeichneten, mit sauren Farbstoffen (Eosin, Säurefuchsin) färbbaren, stark lichtbrechenden Granula. Letztere, etwas grösser als in den entsprechenden Zellen des normalen menschlichen Blutes, erfüllen die Zelle bald vollständig, so dass sie auch den, dann nur schwach durchschimmernden Kern bedecken, bald liegen sie, in geringerer Menge vorhanden, zerstreut über die ganze Zelle, ohne den Kern zu bedecken, bald wieder, zu einem oder mehreren Haufen geballt, central oder wandständig.

Ebenso wie die Verteilung und Zahl der Granula, variiert auch die Form des oder der Kerne. Sehr selten findet sich nur ein runder Kern (in den kleinsten

Formen); meist ist der Kern polymorph, mitunter zierliche Figuren bildend, oder er ist in mehrere Stücke zerfallen (polynucleäre Zellen), wobei die einzelnen Teile völlig getrennt sind, oder, was die Mehrzahl, noch durch deutliche, schwächer gefärbte Spangen und Fäden zusammenhängen.

Bezüglich der Grösse dieser Zellen finden sich gewaltige Unterschiede. Während die meisten einen Durchmesser von 10—12 μ besitzen, gibt es Uebergangsformen von den kleinsten mit ca. 6 μ bis zu wohlerhaltenen wahren Riesenzellen mit 22—25 μ Durchmesser. Als abgestorben oder krank müssen wohl jene Zellen betrachtet werden, deren Kerne und Granula nur geringes Färbevermögen zeigen, deren Granula ausserdem noch sehr vermindert sind oder auch ganz fehlen; sie sind selten.

Ferner enthält das Kaninchenblut grosse polynucleäre oder polymorphkernige Zellen ohne eosinophile Körnung. Die Kerne sind meist plumper als die der eosinophilen Zellen. Bei genauer Einstellung des Mikroscops erkennt man (bei Färbung mit Hämalaun) im Zellkörper sehr schwach tingierte dichtstehende feine Granula. Der Durchmesser dieser Zellen, meist ca. 12 μ, schwankt auch innerhalb ziemlich weiter Grenzen (8 μ [selten] bis 16 μ).

Endlich finden sich einkernige, keine eosinophile Granula tragende Zellen, und zwar kleine (Durchmesser 6—8 μ) mit grossem, rundem, oder ovalem, nur schmalen Protoplasmasaum übrig lassendem Kern — kleine Lymphocyten —, ferner grössere Zellen, 10 bis 15 μ im Durchmesser, mit grossem rundem, ovalem oder gelapptem Kern und meist verhältnismässig

etwas breiterem Protoplasmasaum — grosse Lymphocyten.

Uebrigens findet man auch unter den kleinen Lymphocyten nicht sehr selten stark eingebuchteten, gelappten Kern.

Die Lymphocyten werden als in genetischem Zusammenhang mit den eosinophilen resp. den anderen, keine α-Granula tragenden, nach Ehrlich neutrophil benannten Zellen stehend angesehen. (Ehrlich, Charitee Annal XII.) Speciell werden die neutrophilen Zellen von den grossen Lymphocyten hergeleitet. Es lassen sich denn auch im Blut alle möglichen Uebergangsformen von den einkernigen zu den mehrkernigen resp. polymorphkernigen Zellen beobachten, nur sind die früher erwähnten durch Hämalaun schwach sichtbar gemachten Granula meist erst in den ausgesprochen polymorphkernigen Zellen nachweisbar.

Deutlicher tritt diese Körnung hervor bei der Färbung mit

2. Ehrlichs Dreifarbengemisch. Dieses färbt die Kerne intensiv blaugrün, die Granula blau mit einem Stich ins Violett. Letztere wurden, wie erwähnt, von Ehrlich, weil sie sich weder mit sauren noch mit basischen Farbstoffen färben, neutrophile oder ε-Granula genannt, die sie tragenden Zellen wurden kurzweg als neutrophile Zellen bezeichnet. Das Verhältnis dieser Zellen zu den eosinophilen ist ca. 1 : 4.

Die Kerne der übrigen Leukocyten färben sich mehr weniger intensiv grün, die Granula der eosinophilen Zellen braun, die Erythrocyten blaugrau.

Zur Darstellung der basophilen resp. δ-Granulation, die in den Lymphocyten sich findet, dient

3. die Methylenblaufärbung:

Die Erythrocyten sind blassgelb grünlich; die Kerne sämmtlicher Leukocyten färben sich blau, speciell bei den Lymphocyten jedoch in verschiedenem Grade, indem manche dunkelblau, andere nur blassblau erscheinen, „wahrscheinlich infolge wechselnder, mit der Contraction zusammenhängender Aggregatzustände der Kerne" (Arnold, Virch. Arch. 132).

Die intensiv blauen Granula liegen, meist nur in geringer Zahl, in dem Protoplasmasaum, lassen aber in der Regel eine schmale, fast farblos erscheinende Zone um den Kern herum frei.

Auf die feineren histologischen Details einzugehen, ist hier nicht der Ort. Erwähnt sei nur noch das bei der Färbung mit „Aronson-Philipp" nicht selten beobachtete Vorkommen dunkler schwach lichtbrechender grosser Granula auf dem Kern der kleinen Lymphocyten, welche vielleicht auf einen directen Uebergang der Lymphocyten in eosinophile Zellen hinweisen dürften, der ja von einigen auch angenommen wird.

Versuche.

1. Magnesiumsulfat. 2%.

Die Capillaren enthalten an dem offenen Ende eine 2—3 mm lange allmählig in die klare Lösung übergehende starke Trübung des Inhaltes. Mikroscopische Untersuchung:

Neben vereinzelten neutrophilen ausschliesslich eosinophile Zellen, und zwar mittlere, grösstenteils aber kleine Formen (7—9 μ im Durchmesser), ähnlich den kleinen Lymphocyten. Die Zellen sind wohl erhalten.

2. Natrium boracicum. 2%.

An den offenen Enden dichte weisse Eiterpfröpfe (1—2 mm l mit darauf folgenden 2—3 mm l diffuser Trübung).

M. U.: Neben wenigen neutrophilen Zellen nur eosinophile Leukocyten, und zwar wiederum fast ausschliesslich die kleineren Formen (7—10 μ).

3. Natrium bicarbonicum. 2%.

Kurzer Eiterpfropf.

M. U.: Die Präparate zeigen nur eosinophile Zellen, meist einkernig und die roten Blutkörperchen an Grösse nicht viel übertreffend. Es finden sich ganze Rasen dicht aneinanderliegender wohlerhaltener α-Zellen.

4. Natrium sulfuricum. 2%.

Es findet sich nur ganz geringe Eiteransammlung.

M. U.: Die Granula der fast ausschliesslich eosinophilen Zellen sind nur mehr undeutlich. Neben den normalen Zellen finden sich viele mit stark fragmentiertem Kern, 12—15 (und mehr) einzelne Theile.

5. Kalium bromat. 2%.

Geringe aber deutliche Trübung am offenen Ende.

M. U.: Eosinophile Zellen. Vereinzelte Lymphocyten.

6. Kalium chloricum. 2%.

Dichter weisser 3—4 mm langer Eiterpfropf in jeder Capillare.

M. U.: Die Zellen erweisen sich als eosinophile mit wohlerhaltener Granulation. Hauptsächlich sind die mittleren und grossen Formen vertreten; ausserdem viele in Zerfall begriffene eosinophile Leukocyten.

7. Ammonium chlorat. 2%.

Sämmtliche Röhrchen enthalten 2—3 mm lange dichte weisse Eiterpfröpfe.

M. U.: Eosinophile Zellen; Körnung jedoch undeutlich. Wenige Lymphocyten.

8. Ammonium carbonat. 2%.

2—3 mm lange Eiterpfröpfe.

M. U.: Neben ziemlich häufigen Lymphocyten mit deutlicher Granulation nur mehr eosinophile Zellen mit schön erhaltener Granulation. Es sind sämmtliche Grössen der eosinophilen Zellen vertreten.

9. Acid. boric. 2%.

Ganz geringe Trübung. Nur eosinophile Zellen mit deutlicher Granulation, aber schwach färbbarem Kern.

10. Sublimat. 1‰.

1—1.5 mm lange, gegen die übrige klare Lösung scharf abgegrenzte Pfröpfe.

M. U.: Neben neutrophilen und basophilen überwiegend eosinophile Zellen.

11. Ammoniak. 5%.

1—2 mm weit reichende Trübung an den offenen Enden; langer Bodensatz.

M. U.: Meist einkernige kleine eosinophile Zellen. Zahlreiche Lymphocyten mit deutlicher Körnung.

12. Argentum nitricum. 1%.

Die Capillaren enthalten lange weisse Eiterpfröpfe.

M. U.: Verhältnismässig wenige intacte eosinophile Zellen und Lymphocyten, dagegen massenhafte freie Kerne und Ballen von eosinophilen Körnern.

13. Cuprum sulfuric. 1%.

Dichte 3—4 mm lange bläulich verfärbte Pfröpfe; der übrige Theil der Röhrchen völlig klar.

M. U.: Wie zu erwarten stand, fand sich ein Detritus vor, der hauptsächlich aus Kernen bestand, und in welchem, wenige eosinophile Zellen ausgenommen, die Art der Leukocyten nicht mehr zu erkennen war.

14. Aqua destillata.

3—5 mm weit reichende starke Trübung und Bodensatz.

M. U.: Neben vereinzelten neutrophilen und basophilen Zellen finden sich fast ausschliesslich eosinophile Zellen mittlerer Grösse.

15. Natriumchlorid. 0·6%.

Sehr geringe Leukocytenansammlung.

M. U.: Eosinophile Zellen in überwiegender Zahl; Granulation verschwommen (noch mehr bei 5% NaCl Lösung). Neutrophile und basophile Zellen mit deutlicher Körnung.

16. Hippursäure, gesättigt.

Sämmtliche Capillaren enthalten 3—4 mm lange dichte Trübung; der übrige Inhalt derselben völlig klar.

M. U.: Die Präparate zeigen fast ausschliesslich eosinophile Zellen. Nicht selten sind die früher erwähnten Zellen von der Grösse und Form der Lymphocyten, mit dunklen (Aronson-Philipp-Färbung) nur wenig lichtbrechenden Granula (Uebergangsformen der Lymphocyten zu den eosinophilen Zellen?).

17. Harnstoff. 2%.

2—3 mm lange weisse Eiterpfröpfe, langer Bodensatz.

Wenige neutrophile Zellen und Lymphocyten. Im

Uebrigen nur eosinophile Zellen mit wohlerhaltener Körnung.

18. Leucin. 2%.

6—12 mm weit reichende dichte Eiteransammlung.

M. U.: Vereinzelte polynucleäre neutrophile, sonst nur eosinophile Zellen.

19. Tyrosin, gesättigt.

4—6 mm lange weisse Eiterpfröpfe.

M. U.: Die Präparate zeigen ausschliesslich eosinophile Zellen, meist dicht besetzt mit wohl erhaltenen Granula. Besonders zahlreich sind die Zellen mit stark fragmentiertem Kern (10—20 einzelne Theile verschiedener Grösse).

20. Acidum lactic. 2%.

Ergiebt völlig negatives Resultat in sämmtlichen Röhrchen.

21. Milchzucker. 2%.

2—3 mm lange weisse Pfröpfe, die übrige Lösung klar.

M. U.: Neben den eosinophilen Zellen verschiedener Grösse wenige neutrophile und basophile.

22. Traubenzucker (chemisch rein), 2%.

Die Capillaren enthalten 10—12 mm weit reichende Eiterpfröpfe, starken weit reichenden Bodensatz.

M. U.: Massenhafte eosinophile Zellen, den grossen und grössten Formen angehörend, mit schön erhaltener Granulation. Besonders häufig sind die eosinophilen Zellen mit überaus zahlreichen Kernfragmenten. Vereinzelte neutrophile Zellen und Lymphocyten.

23. Essigsäure, stark verdünnt.

In allen Röhrchen 3 - 6 mm lange Pfröpfe.

M. U.: Eosinophile Zellen, mittlere und grosse

Formen, mitunter in ganzen Rasen, Granula und Kerne wohl erhalten. Die anderen Leukocytenarten sehr spärlich.

24. Gelatine (reinst) 1%, in Wasser aufgelöst.

3—12 mm lange weisse Pfröpfe.

M. U.: Die Präparate enthalten fast ausschliesslich grosse Zellen mit zahlreicher α-Körnung.

25. Oxalsäure. 5%.

Ganz geringe Trübung.

M. U.: Eosinophile Zellen; Granula auffallend stark tingiert.

26. Pepton (Witte) 2%.

Dichte weisse 3—5 mm lange Eiterpfröpfe.

M. U.: Ueberwiegend eosinophile Zellen, besonders grösste Formen. Die Granula zeigen sich ausserordentlich häufig zu Klumpen geballt, bald zwischen den Kernen liegend, bald wandständig.

27. Glutencasein (Grübler).

Nach den Angaben Buchners (Berl. klin. Wochenschrift 1890 No. 47) wurde dasselbe in 0.5% Kalilauge gelöst, mit verdünnter Salzsäure gefällt und der weisse voluminöse Niederschlag in Wasser mit Zusatz von etwas Soda gelöst.

Die Röhrchen enthalten 1—2 mm lange Eiterpfröpfe.

M. U.: Wenige neutrophile Zellen und Lymphocyten mit deutlicher Granulation. Im Uebrigen eosinophile Zellen, mittlere und grosse Formen, mit gut erhaltener Körnung.

28. „Alkalialbuminat."

Darstellung nach Buchner (a. a. O.) „Muskelfleisch (vom Kalb) wird zerkleinert, mit 3% Kalilauge

übergossen und im Eisschrank für 24 Stunden stehen gelassen. Das Gewebe quillt hiebei stark auf und nimmt fast die ganze Kalilauge in sich auf, presst sie jedoch beim Erhitzen im kochenden Wasserbade wieder aus. Nun wird filtriert, mit verdünnter Salzsäure gefällt und der Niederschlag, das Alkalialbuminat, unter Zusatz von etwas Soda bei schwach alkalischer Reaction in Wasser gelöst."

Dieses allerdings nicht chemisch reine Alkalialbuminat bewirkt starke Leukocytenansammlung (3 bis 5 mm lange Eiterpfröpfe).

M. U.: Wenige neutrophile Zellen und Lymphocyten. Die eosinophilen Zellen zeichnen sich durch ihre Grösse und schöne Granulation aus.

29. Piperacin. 5%.

Geringe Leukocytenzuwanderung.

M. U.: Polynucleare und polymorphkernige Zellen, deren Granulation nicht mehr zu erkennen ist.

Wenn wir nun die Resultate der Versuche zusammen fassen, so finden wir bezüglich des leukotactischen Verhaltens der Stofflösungen überhaupt, in die Augen springende Unterschiede. Mehr weniger stark Leukocyten anlockende Stoffe sehen wir in Gelatine, Alkalialbuminat, Leucin, Tyrosin, Pepton (Witte!), Traubenzucker, Harnstoff, Kalium chlor., Ammon. chlor., Argent. nitric., Cuprum sulfur.; schwach chemotactisch oder indifferent sind: Essigsäure, Ammoniumcarbonat., Magnes. sulf., Aqua dest., NaCl etc. Ein völlig negatives Verhalten zeigt sich bei Milchsäure (negative Chemotaxis?).

Ob nun diese Leukocyteneinwanderungen auf die Stofflösungen allein zurückzuführen sind, lässt sich allerdings nicht sehr leicht entscheiden. Immerhin wäre es denkbar, dass in manchen Fällen noch ein Hilfsmoment dazu kommt, insofern, als zwar wirklich Leukocyten angezogen werden, dieselben aber bei Berührung mit den Lösungen zugrunde gehen, in Zerfall geraten, und dabei etwa in Lösung gehende Eiweissstoffe ihrerseits wieder chemotactische Wirkung entfalten (Cupr. sulf. Arg. nitric. Essigsäure?).

Was nun die Species der Leukocyten anbelangt, die ihren Weg in die Capillaren genommen, so sehen wir, dass in allen Fällen, in denen überhaupt durch Färbung die Art der Zellen festzustellen war, die eosinophilen Zellen weitaus das Uebergewicht haben, neutrophile und basophile Zellen entweder ganz fehlen oder in nur verschwindend geringer Menge vorhanden sind. (Es darf vielleicht nicht unerwähnt bleiben, dass verschiedene der Versuche ein- und zweimal mit im Wesentlichen denselben Resultaten wiederholt wurden.)

Kann nun dieser Befund im Sinne H. Fr. Müllers verwendet werden?

Diese Frage lässt sich jetzt noch weder bejahen, noch verneinen.

Die Ansammlung von fast ausschliesslich eosinophilen Zellen ist entschieden auffallend. Aber nicht minder auffallend wäre es, dass die ganze Reihe der verwendeten Substanzen gerade α-chemotactisch wirken sollte. Zwei am Meerschweinchen ausgeführte Versuche mit Harnstoff und Traubenzucker ergaben allerdings auch überwiegend eosinophile, wenige neutrophile und gar keine basophile Zellen. Bei Versuchen am Hunde

mit Harnstoff (sehr starke Eiteransammlung) und mit Piperacin (geringe Trübung), fehlten eosinophile Zellen jedoch ganz; an deren Stelle waren neutrophile Zellen und zahlreiche Lymphocyten vorhanden.

Wie theilweise schon vorausgeschickt, lässt sich ein experimenteller Beweis der Auffassung Müller's nur durch ausgedehnte Versuche an verschiedenen Thieren, Kaninchen, Hunden, Meerschweinchen, Vögeln, Schildkröten etc., eventuell auch an Menschen erbringen, bei Anwendung der verschiedensten Stofflösungen, insbesondere der Bakterienproteine, ferner Stoffen, welche mit den Charkot'schen Kristallen identisch oder wenigstens nahe verwandt sind, und Aehnlichem.

Gleichzeitig dürfte es bei diesen Versuchen auch nicht ohne Belang sein, die Genese der Leukocyten nicht aus dem Auge zu verlieren.

„Die Entwicklung (Müller-Rieder) der einkernigen weissen Blutkörperchen (Lymphocyten), wie sie aus ihren Bildungsstätten (Knochenmark, Lymphdrüsen, Milz) ins Blut gelangen, zu den mehrkernigen, polymorphkernigen, feingranulierten, geht im strömenden Blute vor sich. Ebenso entwickeln sich die eosinophilen Zellen des normalen Blutes, die aus den feingranulierten Leukocyten (nach anderen direct aus den Lymphocyten) durch Bildung der groben Körner im Zellleib entstehen, wahrscheinlich auch im Blute. Im Blute geht die „Reifung" der feingranulierten Zellen (resp. eosinophilen Zellen) vor sich".

Mag man nun immer die eosinophilen Zellen ableiten von den feingranulierten, oder direct von den Lymphocyten, so gibt dieser genetische Zusammenhang

der Leukocyten vielleicht doch einen Anhalt zu einer vorläufigen Erklärung der Anwesenheit von fast ausschliesslich eosinophilen Zellen.

Wie erwähnt, finden sich in den Leukocytenansammlungen innerhalb der Versuchscapillaren, nicht nur die eosinophilen Zellen von der Form und Grösse, wie sie sich vornehmlich im Blute repräsentieren, sondern meist auch auffallend viele eosinophile Zellen, die in Grösse und Kernform den gewöhnlichen Lymphocyten vollkommen gleichstehen, und bald nur geringe, bald aber dichte, stark lichtbrechende α-Granulation tragen. Mit Rücksicht auf diesen Befund wäre es vielleicht nicht unwahrscheinlich, dass auf Grund einer, durch die in den Röhrchen enthaltene Substanz, bewirkten, nicht näher definierbaren „localen entzündlichen Leukocytose", die Lymphocyten (event. auch die neutrophilen Zellen), auf dem Wege zur Capillare und in derselben, eine beschleunigte „Reifung" zu eosinophilen Zellen, resp. eine beschleunigte „Sekretion" von α-Granula durchmachen und die aus den Gefässen ausgewanderten älteren eosinophilen Zellen ergänzen.

Es erübrigt mir noch, dem hochverehrten Herrn Professor Dr. Bauer für die Ueberweisung des Themas und die Ueberlassung des für die Bearbeitung notwendigen Materiales, Herrn Oberstabs-Arzt Professor Dr. H. Buchner und insbesondere Herrn Privatdocent Dr. May, welche mir mit Rat und That freundlichst zur Seite gestanden, den besten Dank abzustatten. Ebenso bin ich Herrn Dr. v. Niegolewski für die bereitwillige Unterstützung bei der Ausführung der Versuche zu grossem Dank verpflichtet.